Aus der Universitäts-Frauenklinik zu Breslau
(Leiter: Prof. Dr. L. Fraenkel)

Erzeugung von temporärer Sterilität beim weiblichen Kaninchen durch Spermatoxine

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung

der Doktorwürde in der Medizin und Chirurgie

der

Hohen Medizinischen Fakultät

der

Schlesischen Friedrich-Wilhelms-Universität zu Breslau

vorgelegt von

Franz Ardelt

Breslau 1931

Gedruckt mit Genehmigung der medizinischen Fakultät
der Universität Breslau.

Referent: Prof. Dr. L Fraenkel

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548224_0068

(Aus der Universitäts-Frauenklinik Breslau. — Direktor: Prof. Dr. *L. Fraenkel.*)

Erzeugung von temporärer Sterilität beim weiblichen Kaninchen durch Spermatoxine.

Von

Franz Ardelt.

Mit 2 Textabbildungen.

„Der temporären Sterilisation gehört die Zukunft" (*Winter*). Herz- und Lungenkrankheiten, die sehr oft eine Sterilisierung der Patientin unbedingt nötig machen, können geheilt werden, und dann ist solchen Frauen jede Fortpflanzungsmöglichkeit genommen. Deswegen herrscht schon lange das Bestreben, die Sterilität zeitlich zu begrenzen, um nach Ablauf der die Unfruchtbarkeit fordernden Krankheit wieder eine Gestationsmöglichkeit zu schaffen. Die einzelnen Arten, nur zeitlich begrenzte Unfruchtbarkeit zu bewirken, sind jetzt außerordentlich zahlreich. In der Praxis sind es hauptsächlich zwei Verfahren, die benutzt werden, die Operation und die Röntgenstrahlen. Die erste operative Maßnahme gab 1912 *F. A. Kehrer* an durch Verhinderung der Eileitung. Bis heute sind die verschiedenen angegebenen Operationen zum Sterilitäterzeugen stark angewachsen. *Naujoks* schildert 24 verschiedene Operationen, von denen jedoch nur die Versenkung des Ovars in eine Peritonealtasche (*Blumberg* 1913, *van de Velde* 1921) oder die intraperitoneale Versenkung des Tubentrichters (*Schweitzer* 1921) seiner Ansicht nach Erfolg verspricht. Ein Vorteil der operativen Sterilisierungen ist es, daß die Korrelation des ganzen endokrinen Apparates nicht beeinflußt wird und die Menses erhalten bleiben. Auch die genaue Begrenzung der Dauer der Sterilität ist ein Vorteil. Jedoch bedeutet es für eine Patientin, die sowieso schon durch ihr Leiden geschwächt ist, einen sehr starken Eingriff, wenn 2mal operiert werden muß. Deswegen werden heute zur temporären Kastration wohl am meisten die Röntgenstrahlen angewandt. Mit 20—25% der H.E.D. werden die Ovarien bestrahlt, das sind 60% der Dosis, die völlige Kastration bewirkt. *Gauss* gab 1911 als erster diese Methode der Temporärkastration an. Diese Behandlungsart hat aber den Nachteil, daß die Dauer ihrer Wirkung nicht exakt zu messen ist und die Möglichkeit einer Schädigung der Nachkommenschaft besteht. *Oskar* und *Günter Hertwig* konnten bei Versuchstieren zahlreiche

Entwicklungsstörungen nach Röntgenstrahlen beobachten. Nach *Lenz* kann sich die Schädigung auch recessiv verhalten, so daß erst in späteren Generationen die Defekte zutage treten.

Ganz andere Wege geht die Sterilität, die auf biologischem Wege humoral erzeugt werden kann. *Haberlandt* konnte zeigen, daß bei Kaninchen nach Implantation von Ovarien von trächtigen Tieren, die schon in der zweiten Hälfte der Gravidität waren, eine hormonale Sterilisierung erreicht wurde, die 6—12 Wochen anhielt. Wirksam sind dabei das Corpus luteum graviditatis und die Glandula interstitialis. Injektion von Ovarialopton gravider Tiere und von Placentaopton bewirkt das gleiche. Histologisch zeigte sich bei dem hormonal sterilisierten Tier eine Wucherung des interstitiellen Gewebes, und es fehlten sprungreife Follikel im Ovar. Dieselben Ovarveränderungen erreichte an der hiesigen Klinik *Reiprich* durch Transplantation von Hoden. Er erhielt dadurch bei seinen Versuchstieren eine Sterilität, die der Größe des Transplantates parallel ging. Gleichzeitig gelang ihm beim graviden Tier die hormonale Unterbrechung der Schwangerschaft. Eine andere Möglichkeit der Humoralsterilisierung ist die durch Spermatoxine.

Über das serobiologische Verhalten der Geschlechtszellen hat *Dunbar* grundlegende Versuche angestellt. Er zeigt, daß sich die Geschlechtszellen serobiologisch anders verhalten als die übrigen Zellen desselben Organismus. Er machte seine Experimente bei Pflanzen und Fischen, bei denen sich die Geschlechtszellen in völlig reiner Lösung darstellen ließen. Z. B. das Polleneiweiß der Roggenpflanze verhält sich gegenüber dem Eiweiß der anderen Roggenzellen wie artfremdes Albumen. Er wies dies mittels der Komplementablenkung nach. Auch die Präcipitation zeigte dieselbe Sonderstellung des Polleneiweißes. Auch bei Fischen verhielt sich das Eiweiß der Geschlechtszellen artfremd gegenüber den anderen Körperzellen. Seine Versuche zeigten nicht die geringsten Reaktionen des Immunserums mit dem Blutserum der Fische, das als Antigen verwandt wurde. Er zieht aus seinen Versuchserfolgen den Schluß, daß sich sowohl die männlichen wie die weiblichen Geschlechtszellen gegeneinander wie gegen andere Gewebsbestandteile desselben Organismus wie artfremd verhalten. Dem Sperma kommt also wie den Linseneiweißkörpern von *Uhlenhuth* eine Sonderstellung in serologischer Hinsicht zu.

1899 machte *Landsteiner* den ersten Versuch, durch intraperitoneale Injektion von Stiersperma bei Meerschweinchen Antikörper zu erzeugen. Er fand, daß die Spermatozoen in der Bauchhöhle des immunisierten Tieres schneller zugrunde gingen als beim Normaltier. *Metschnikoff* injizierte zur Erzeugung von Spermatoxinen 2—4 Kaninchenhoden, um beim Meerschweinchen ein Serum zu erhalten, das für die Kaninchenspermatozoen toxisch war. Er erhielt leicht dieses künstliche Sperma-

toxin, das die Kaninchenspermatozoen in wenigen Minuten immobilisierte. Wenn die Toxine sehr schnell wirken, so werden die Spermatozoen angehalten, ohne zu agglutinieren, wenn dagegen die Wirkung langsam ist, so vereinigen sich die Spermatozoen mit den Köpfen zu Haufen, und die Schwänze sind radiär nach außen gerichtet. Cytolysine gegen das Sperma konnte er nicht finden, nur manchmal zeigten sich im Verlauf der Schwänze kleinste Granula. Das Spermatoxin ist streng spezifisch und wirkt nicht auf heterologe Spermatozoen. Auch irgendwelche andere Körperzellen werden durch das Toxin nicht angegriffen. Diese sog. Isospermatoxine wirken also nur auf die Spermatozoen, mit denen das Tier immunisiert wurde. Dieselben Versuche machte *Moxter* mit Hammelspermatozoen, die er Kaninchen injizierte. In die Bauchhöhle gespritzte Spermatozoen bleiben beim normalen Tier 60—90 Minuten beweglich, während beim Immuntier die Bewegung schon nach 20 bis 25 Minuten erlischt. Nach 24 Stunden sind alle Spermatozoen durch Phagocytose weggeschafft. Auch er hat nie cytolytische Erscheinungen beobachtet. Das Verhalten der Spermatozoen im Serum zeigte im Gegensatz zu *Metschnikoff* keinen Unterschied. Nach 2—6 Minuten ist alles immobilisiert. Wenn man Serum + Sperma dann zentrifugiert, so hat das überstehende Serum seine toxischen Eigenschaften gegen Sperma verloren durch Bindung des Toxins an das Antigen Sperma. In vitro konnte er die Toxine also nicht nachweisen, dagegen in der Bauchhöhle eines Tieres gelang dies sehr leicht. Inaktiviertes Immunserum + Sperma intraperitoneal injiziert ergibt nach 5 Minuten Immobilisation durch Aktivierung des Amboceptors durch das hier vorhandene Komplement, dagegen inaktiviertes Normalserum nicht. Zum Nachweis der Agglutination wurden die Spermatozoen vorher abgetötet, da sie auch in NaCl sich zu Haufen zusammenballen, solange ihre Beweglichkeit erhalten ist. Der Unterschied zwischen Normal- und Immunserum war dann sehr deutlich. Bei heterogenen Spermatozoen war keine Agglutination zu sehen. Die Toxine bleiben im Versuchstier 15—20 Tage nach der letzten Injektion nachweisbar. Außer den Hammelspermatozoen wurde auch das Hammelblut durch das Immunserum beeinflußt. Es erlitt Hämolyse. Wahrscheinlich wird diese Hämolyse aber so erklärt werden können, daß der zur Injektion verwandte Hoden nicht ausgeblutet war und so neben der spezifischen Antikörperbildung gegen das Antigen Sperma auch Antikörper gegen das mitinjizierte Bluteiweiß gebildet wurden (*Kolmer*, *Pearce*). *Metalnikoff* untersuchte ebenfalls die Spermatoxine im Serum. Der Unterschied zwischen Immun- und Normalserum war sehr schwach, da das Kaninchenserum durch sein Alexin für Meerschweinchenspermatozoen sehr toxisch ist. In beiden Fällen wurden die Spermatozoen in 3—5 Minuten abgetötet. Erst wenn man die Seren auf 56° erwärmt, also inaktiviert, und dann das nicht so giftige Meerschwein-

chenalexin verwendet, zeigen sich sehr starke Unterschiede. Es gelang ihm dadurch, die substance sensibilisatrice im Immunserum nachzuweisen. Die eigenen Spermatozoen wurden in vitro ebenfalls abgetötet, jedoch nicht in der Epididymis. *Farnum* konnte 1901 nach Immunisierung eines Kaninchens mit Samen zuerst zeigen, daß spezifische Antisamenpräcipitine gebildet werden. Auch *Strube* konnte so schwache Präcipitinreaktion des Serums darstellen. Hämatoaktivserum wirkte aber genau so präcipitierend auf das Sperma wie Spermaaktivserum präcipitierend auf das Blut. Er glaubt daraus schließen zu können, daß Blut und Sperma ein und denselben Eiweißkörper haben. *A. Schütze* verwendet deshalb zum Nachweis von Samen zu forensischen Zwecken nur das Immunserum gegen das Blut der betreffenden Tierart. Dies ist natürlich nicht speziell als Spermanachweis zu verwenden, sondern nur als Eiweißdifferenzierungsmethode. *G. Pfeiffer* konnte mittels streng spezifischer gegen das Sperma gerichteter Sera das Sperma auch aus Eiweißgemischen ausfällen und nachweisen. Hodenextrakt konnte durch dieses Verfahren von Samen nicht getrennt werden. Auch *Hektoen* (1922) fand ein spezifisches Präcipitinserum gegen menschlichen Samen. Extrakte von sorgfältig gewaschenen Spermatozoen geben Präcipitate mit Antisamenserum. *Taylor* berichtet über Auflösung der Spermatozoen im Blutserum der immunisierten Tiere im Gegensatz zu den Berichten von *Landsteiner, Metschnikoff* u. a. Er konnte kein spermatoxisches Serum erhalten durch Immunisation mit isolierter Nucleïnsäure, Protaminen oder Ätherextrakten von Sperma. Sehr interessante Versuche machte *Adler* über Autospermatoxine beim Meerschweinchen. Er erzeugt die Antikörper durch Hoden, die er dem Versuchstier selbst entnimmt und parenteral demselben Tier einverleibt. Er machte 2 Injektionen mit je einem Testis mit 5tägigem Intervall und untersuchte dann am 10. Tage das Serum. Nach 2—7 Minuten wurden die Spermatozoen im Immunserum getötet, während Normalserum im Gegensatz zu den anderen Berichten keinerlei Störung der Spermabeweglichkeit verursachte. Da durch dieses mit Meerschweinchensperma gewonnene Serum auch Kaninchenspermatozoen agglutiniert und abgetötet werden, so kommt er zu dem Schluß, daß diese Autospermatoxine nicht artspezifisch sind, sondern auch heterospermatoxisch wirken können. Die von ihm erzeugten spermatoxischen Sera wirken nicht hämolytisch. Injektion von Leber- und Nierengewebe erzeugte keine Spermatoxine. Das autospermatoxische Serum hat die gleichen Eigenschaften wie alle übrigen cytotoxischen Seren. Das Serum enthält also die substance sensibilisatrice und Alexine. *Metalnikoff* stellte Experimente an, warum in vivo das Spermatoxin nicht auf die im Hoden befindlichen Spermatozoen wirkt. Er macht dafür das Fehlen des Alexins verantwortlich, das erst nach Zerstörung der Leukocyten frei wird. Die Spermatozoen dieses

immunisierten Tieres werden in vitro im Normalserum sofort abgetötet, da in diesem Serum Alexin disponibel ist und der Fixateur sich schon vorher im immunisierten Tier mit dem Sperma verbunden hat.

Bei weiteren Untersuchungen zeigte er jedoch, daß seine ersten Versuchsschlüsse falsch waren und die Spermatozoen keinen Fixateur gebunden enthielten. Er konnte nachweisen, daß im Hoden und Nebenhoden ein besonderes Agens vorhanden war, was die Spermatoxine unschädlich macht. Denn mischt man Immunserum mit Hodenextrakt und setzt dann Spermatozoen hinzu, so wirkt das Serum nicht giftig. Auch andere gegen Spermatozoen gerichtete Gifte können so neutralisiert werden. *Fitzgerald* wies die Spermatoxine nach mittels der Komplementfixation. Es zeigte sich dabei ein sehr großer Unterschied zwischen Normal- und Immunserum. *Metalnikoff* und *Strelnikoff* stellten fest, daß alle Organextrakte spermatoxischer Tiere außer Gehirn und Muskeln Spermaamboceptoren enthielten. Jedoch wirken diese Organextrakte nie ohne Alexinzusatz. Durch Transplantation eines Hodens oder durch Einlegen eines Kollodiumsäckchens mit Spermatozoen in die Bauchhöhle entstehen gleichfalls Spermatoxine, die denen nicht nachstehen, die durch subcutane Injektionen des Antigens hervorgebracht werden. *Guyer* injizierte auch männlichen Tieren Sperma, bei denen das Toxin wesentlich stärker ausgebildet war als bei den injizierten weiblichen Tieren. Auch die männlichen Tiere werden steril. Mikroskopische Untersuchung des Testis zeigte Auflösungserscheinungen der Tubuli seminiferi.

Minet und *Leclercq*, *Tsukahara* und andere berichten über Anaphylaxieerscheinungen nach Spermainjektionen. Die Versuchstiere gingen bei Reinjektion nur des Spermas, mit dem sensibilisiert worden war, unter Streckkrämpfen zugrunde. Diese Anaphylaxie ist streng spezifisch. Bei den Sterilitätserzeugungen kommen derartige Erscheinungen aber wenig in Frage, da die injizierten Antigenmengen nicht so groß sind wie die hier verwandten.

Tuschnoff war der erste, der nicht nur die Spermatoxine im Serum beobachtete, sondern auch ihre Wirkung auf die Genitalfunktion. Und so erreichte er durch aktive Immunisierung mit Sperma beim Kaninchen eine temporäre Sterilität durch Spermatoxine. Er stützte sich auch besonders auf den Gebrauch von Heterospermatoxinen, dessen Injektionen harmlos waren. Ein Jahr später wurden von *Savini* und *Savini-Castano* die gleichen Beobachtungen gemacht. Er immunisierte Meerschweinchen und Kaninchen mit arteigener Hodensubstanz und erreichte dadurch eine nachfolgende Sterilität. Die Sera hatten agglutinierende, spermatoxische und opsonierende Eigenschaften. Solange die Antikörper im Serum sind, bleiben die Weibchen steril. Der opsonische Index, der im Normalserum 1,5 beträgt, ist hier auf 2,0 erhöht.

Komplementbindung und Präcipitation fehlten. Die Ovarien waren leicht degeneriert und hatten atrophische Graafsche Follikel. *Venema* versuchte an 2 Tieren, ob die durch Spermainjektion erzeugten Spermatoxine befruchtungshemmend wirken können. Er machte 4 Injektionen mit siebentägigem Intervall. Das erste Versuchstier verlor während der Vorbehandlung an Gewicht. Es wog nach der letzten Injektion 4000 g, während es vorher 4490 g wog. Das Tier war 58 Tage steril. Beim zweiten Tier injizierte er den Samen blutfrei. Das Gewicht fiel dabei von 3640 g auf 3320 g. 9 Tage nach der letzten Injektion wurde das Tier gedeckt und brachte nach 30 Tagen 7 tote Feten zur Welt. Daraufhin wurden die Injektionen mit Hoden, der nicht entblutet war, wiederholt. Jetzt dauerte die Sterilität 40 Tage. Unabhängig von allen stellte *Dittler* beim Kaninchen Sterilisierungsversuche an, indem er die komplexe Spermaflüssigkeit intravenös injizierte, ohne die innersekretorische Funktion der Keimdrüsen zu berühren. Wie ja schon gezeigt, wirkt das parenteral einverleibte Sperma als Antigen. *Dittler* hält nach seinen Untersuchungen das Sperma auch für artspezifisch, da er durch Injektion von Menschensperma keinerlei Ergebnisse hatte. Die Ansicht von *Stieve*, daß der Samen innersekretorische Eigenschaften besäße, glaubt er durch diesen Injektionsversuch mit menschlichem Sperma widerlegt zu haben, da Hormone keine Artspezifität besitzen. Er konnte bei seinen Versuchen eine Sterilität bis zu 4 Monaten erzeugen, wonach dann wieder vollständige Zeugungsfähigkeit eintrat, ohne irgendeinen Einfluß auf die Nachkommenschaft. Er injizierte insgesamt bis zu 5 ccm der komplexen Spermaflüssigkeit mit einem Intervall von 1—8 Tagen und erreichte vom 8. Tage der Vorbehandlung ab eine Sterilität. Die Spermatoxizität im Blut konnte schon 8 Tage nach Beginn der Behandlung nachgewiesen werden. Im hängenden Tropfen wurden die Spermatozoen schneller im Immunserum agglutiniert als im Kontrollserum und starben auch schneller ab. Durch einmalige größere Injektion gelang es nicht, da wahrscheinlich zur erforderlichen Antikörperkonzentration ein Kunstgriff nach *v. Dungern* angewendet werden muß, wonach das Protoplasma erst durch mehrere Einspritzungen für die neue Funktion vorbereitet wird. Eine Unterbrechung der Gravidität ist *Dittler* nicht gelungen. Durch Probelaparotomie stellte er eine völlig ungestörte Ovarialfunktion fest, und auch das allgemeine Wohlbefinden war nie gestört bis auf einen Verlust an Körpergewicht, der manchmal bis $^1/_5$ des Gesamtgewichts ausmachte. Zweimal wurde sogar eine proteïnogene Kachexie beobachtet. *McCartney* experimentierte mit weißen Ratten wegen ihrer bekannt großen Fertilität und beim Huhn. Alle Versuchstiere mußten schon einmal normal geworfen haben. Die Spermalösung wurde bei Huhn und Ratte durch Hodenexstirpation gewonnen. Er stellte sich eine Injektionslösung her, die 80000 Spermatozoen pro Kubikzentimeter NaCl

enthielt. Er injizierte subcutan so, daß die letzte Injektion 7 Tage vor der nächsten Ovulation gemacht wurde. Die Antigendosis war wechselnd, 0,5—1,0—1,5 mit viertägigem Intervall und nie mehr als im ganzen 3,0 ccm. 21 Tage nach der letzten Injektion wurden die Ratten wieder gepaart. Den Hennen wurde 5 ccm Hahnsperma eingespritzt. Die sexuelle Kraft der Ratten wurde durch die Injektionen nie gestört. Sie kopulierten ganz normal. Bei 79 Proben waren die weiblichen Ratten von 2—22 Wochen und länger steril. Bei Injektion von schwangeren Ratten zeigten sich 5 Fälle, die abortierten. Durch direkte Untersuchung konnte festgestellt werden, daß die nach Ablauf der temporären Sterilität geborenen Jungen sich völlig normal verhielten, wenn sie im Alter von 4 Monaten miteinander gepaart wurden. Beim Huhn waren die Resultate so, daß die Eier noch 8—16 Tage fruchtbar blieben und dann für 12—67 Tage steril waren. Zwischendurch kamen aber einzelne fruchtbare Eier vor. Die Immunisation wurde so beobachtet, daß man die Eier 72 Stunden bebrütete und dann die Fruchtbarkeit bestimmte durch die Entwicklung des Blastoderms. Zur Spermatoxinbestimmung im Vaginal- und Uterinsekret wurden kleine Baumwollfäden in die Vagina der Ratten gelegt, und diese Fäden wurden dann, mit dem Sekret getränkt, auf Antikörper geprüft. Er findet das Spermatoxin, das in den Vaginalsekreten anwesend ist, direkt proportional der injizierten Antigenmenge. Beim Normaltier ist das Toxin zwar auch anwesend, aber in wesentlich geringerer Konzentration. In 10—50 Sekunden waren die Spermatozoen der Ratte unbeweglich und nach 40—120 Sekunden waren sie agglutiniert. Beim normalen nulliparen Tier wurden die Spermatozoen erst nach 2 Stunden 53 Minuten immobilisiert. *Fogelson* benutzte als Antigen Menschen- und Meerschweinchensperma. Er injizierte weißen Ratten mit viertägigem Intervall 100000, 200000 und 300000 Spermatozoen. Bei Injektion von arteigenem Sperma dauerte die Sterilität durchschnittlich 12 Wochen. Die mit Meerschweinchensperma injizierten Ratten waren 6—29 Wochen mit einem Durchschnitt von 14 Wochen steril. Die mit menschlichem Sperma injizierten Tiere waren 3—26 Wochen mit einem Durchschnitt von 14 Wochen nicht befruchtungsfähig. Die Ovulation wurde nie beeinflußt, was er durch den cyclischen Wechsel der Vaginalschabsel zeigte. Die im Serum gebildeten Präcipitine waren spezifisch bis zu 1 : 128. Unterschiede in der Agglutination konnte er nicht finden, da auch Normalserum agglutinierte. Trotz der vorhandenen Präcipitinreaktion konnten Lysine nie gefunden werden im Gegensatz zu *Taylor*. Die Unterbrechung einer bestehenden Schwangerschaft gelang nicht. Aus seinen Versuchen schließt *Fogelson*, daß der Antigeneffekt nicht spezifisch für bestimmte Arten ist, denn artfremde Spermatozoen ergaben die gleichen Resultate. *Castoro* ist es nach seinen Untersuchungen zweifelhaft, ob die Sterilität durch eine

Proteïnreaktion oder durch spezifische Immunisierung erreicht wird. Er machte seine Experimente an Hund, Kaninchen und Ratte und erzeugte bei ihnen temporäre Sterilität. Seine Tiere verloren ungeheuer an Gewicht, und es entstand nach zahlreichen Injektionen eine proteïnogene Kachexie. Als Antigen benutzte er das komplexe Sperma, das unter allen aseptischen Kautelen den Samenblasen eines Meerschweinchens entnommen wurde. 0,75 ccm Samen werden mit 5,25 NaCl vermischt und davon jedesmal 2 ccm injiziert. Er machte bis zu 18 (!) Injektionen beim Kaninchen, jeden 2. Tag eine. *Rosanow* stellte sich die Frage, ob es möglich ist, durch Immunisierung der Frau mit Spermatozoen eines Tieres ein Serum zu erhalten, das auch gegen die Spermatozoen des Menschen toxisch wirkt. Die toxische Wirkung seiner Seren bestand in Bewegungsstillstand und Auflösung der Spermatozoen. Er beobachtete keine Agglutination. Die Immunsera des Kaninchens wirkten nur toxisch auf die Spermatozoen der betreffenden Tierart, nicht aber auf Menschenspermatozoen. Dagegen liefert Affensperma ein Kaninchenserum, das auch menschliche Spermatozoen angreift. *Uchigaki* in Kyoto erzeugte eine Spermatoxizität, die abhängig war von der Zahl der Injektionen und dem Intervall zwischen den einzelnen Spritzen. Die Dauer der Spermagiftigkeit ist nach seinen Angaben 9 Tage mit dem Höhepunkt am 2. Tage post injectionem. Die Lebensdauer der Spermatozoen im Uterus ist herabgesetzt. Im Ovarium fand er eine Degeneration der reifenden und reifen Follikel. Die Uterusmucosa selbst degenerierte ebenfalls. Eine Erholung fand erst 8—10 Wochen nach der Spritzung statt. Die Sterilität wird von ihm so erklärt, daß in der ersten Zeit direkte Giftwirkung des Spermatoxins vorhanden sei, während nach dem Verschwinden dieses Giftes die Veränderung des Ovars die weitere Sterilität bewirkt. Die Dauer ist dann abhängig von der Erholungszeit des Genitale. Die Sterilitätserfolge ähneln sehr denen, über die *Reiprich* berichtet. Wahrscheinlich wurde zur Injektion Hoden verwandt, so daß neben dem Toxin noch eine hormonale Komponente wirkte und so die histologischen Veränderungen des Ovars bedingte. Die wohl erschöpfendsten Experimente machten *Kostromin* und *Kartashev*. Die Versuche dauerten 3 Jahre. Sie injizierten Weibchen artfremdes Sperma, teils lebend, teils abgetötet, und erhielten in beiden Fällen Sterilität. Die Erfolge waren jedoch bei den Tieren, die mit lebendem Sperma behandelt waren, besser als bei denen, die mit toten Spermatozoen gespritzt wurden. Auf Grund dieser Arbeit stellte dann *Jarcho* in New York Versuche an. Auch er erreichte nicht nur bei arteigenem Sperma beim Kaninchen eine Sterilität, sondern auch mit artfremden. Die Spermatozoen wurden von Kaninchen, Meerschweinchen oder Schafen gewonnen. Er verwendet teils ebenso wie *Dittler* die komplexe Samenflüssigkeit oder auch durch Zentrifugieren und Auswaschen mit Ringerscher Lösung ge-

waschene Spermatozoen. Um eine genaue Dosierung zu erreichen, wurden die Spermatozoen vor der Injektion in einer Kammer genau ausgezählt. Bei einer zweiten Versuchsserie wurden in 0,25% Formalin abgetötete Spermien verwandt, die ebenfalls vorher in NaCl gewaschen waren. Das hat natürlich für eine evtl. klinische Applikation einen großen Vorteil, da einerseits die Formalinlösung eine Zersetzung verhütet, andrerseits die schwache Lösung frei von schädlichen Effekten ist. Bei einer dritten Serie wurden Spermatozoenextrakte gebraucht. Die Spermien wurden mit sterilem Seesand im Mörser zerstört und noch mit 95proz. Alkohol oder Natronlauge versetzt, die dann neutralisiert wurde. Er erzielte durch Injektion der komplexen Flüssigkeit eine Sterilität bis zu 7 Monaten. Denselben Erfolg hatte er mit dem gewaschenen Material. Bei Injektionen von Spermatozoenextrakten, deren morphologische Unversehrtheit also gestört war, erreichte er bei den mit Natronlauge behandelten Lösungen eine Sterilität über 4 Monate, während bei Vorbehandlung des Extrakts mit Alkohol oder NaCl die Sterilität nur 2 Monate währte und nachher im Gegensatz zu den anderen Versuchen die Würfe vermindert waren. Er glaubt diesen letzteren Effekt einer unspezifischen Proteïnwirkung zuschreiben zu müssen, wie *Köhler* und *Greill* es zur Erklärung der *Haberlandt*schen Erfolge durch Transplantation von Ovarien trächtiger Tiere vorschlagen. Bei dieser ganzen dritten Serie ist es schwer, die Wirkung einer echten antigenen Kraft zuzuschreiben. Seine genauen Untersuchungen über die Spermatoxizität des Serums der immunisierten Tiere ergeben keinen Unterschied gegenüber den nichtbehandelten Kontrolltieren. Auch im Vaginalsekret konnte er keine Spermatoxizität feststellen. Durch Probelaparotomie wurde auch von ihm eine ungehinderte Ovulation und histologisch ein völlig normales Ovar festgestellt. *Rosenfeld* injizierte auch Sperma beim Menschen. Er beschreibt 3 Fälle, die mit unspezifischen Eiweißkörpern behandelt werden mußten wegen Encephalitis lethargica, rheumatischen Herzklappenfehlers und multipler Arthritis. Er gebrauchte bei 60° sterilisiertes Menschensperma und auch lebende Spermatozoen, bei deren Injektion sich ein leichtes Fieber und mäßige Lokalerscheinungen zeigten. Er konnte jedoch bei allen 3 Patientinnen trotz zahlreicher Injektionen keine Spermatoxine im Blutserum darstellen. Auch nach Spermainjektion beim Kaninchen war der Spermatoxinnachweis im Serum immer negativ. Die Komplementbindung war beim Tier positiv in Verdünnungen bis zu 1 : 400. Bei 1 : 600 Verdünnung war die Reaktion noch schwach positiv. Das Kontrollserum verhielt sich negativ. Nach seinen Angaben sollen einzelne Berichte bestehen, nach denen durch Spermainjektion beim Weibe eine temporäre Sterilität von etwa 20 Monaten resultiert. *Kolpikov* soll ein standardisiertes Vaccin hergestellt haben, das aus Spermatozoen zusammengesetzt ist, um eine aktive Immunität zu bewirken.

und ebenso ein spermatoxisches Serum zur Erzeugung von passiver Immunität zu kontrazeptiven Zwecken. Die Versuche sollen bis zu 92% Erfolg haben. Über Versuche von *M. S. Naiditsch* berichtet *Hodann*. Bei Tieren fand er eine Sterilität von 3—19 Monaten mittels artfremden Spermas bei ungehinderter Ovulation. Er dehnte seine Versuche auch auf Frauen aus, denen er binnen eines Monats 6—10 Injektionen machte. Pro Kilogramm Körpergewicht wird eine Milliarde Spermatozoen injiziert. Er sterilisierte im ganzen 30 Frauen mit 92% Erfolg. Die 8% Versager werden falschen Dosierungen zugeschrieben. Die Sterilität dauerte bei normalen Menses von $2^1/_2$ Monaten bis zu über einem Jahre. Die Reaktionen auf die Injektionen bestanden in Fieber und Schüttelfrost, die aber sehr bald schwanden.

Nach all diesen Versuchen scheint es wahrscheinlich, daß man beim Tier durch Spermainjektion eine temporäre Sterilität herbeiführen kann. Nur über die Wirkung der Spermatoxine auf das Ei und die bei der Kohabitation ejaculierten Spermatozoen herrscht noch nicht völlige Klarheit. Viele Forscher glauben, analog diesen Versuchen bei sterilen Ehen, wo keinerlei pathologische Veränderungen gefunden werden können, die Diagnose „Spermaimmunität" stellen zu können durch Resorption des bei dem Coitus deponierten Spermas. Es ist eine alte Weisheit, daß das Übermaß sexueller Beziehungen keineswegs förderlich für die Fruchtbarkeit ist, und es kommt öfters vor, daß nach einiger Zeit sexueller Abstinenz nachher das erwartete Kind eintrifft. *Mayer* will so die verschiedenen Kriegsschwangerschaften erklären, wo durch den Wegfall der Spermaüberladung die Bedingungen für eine Konzeption wesentlich bessere sind. Auch die professionelle Sterilität der Prostituierten kann nach *Vogt* einer Spermaimmunität zuzuschreiben sein, im Gegensatz zum ersten Coitus, der sehr oft befruchtend ist, da vor dem Verkehr noch keine Immunität vorhanden ist. Auch unmittelbar post menses sei die Möglichkeit einer Befruchtung gestiegen durch die Abstinenz während der Blutung. Er schreibt dem Sperma neben der generativen noch eine biologische Eigenschaft zu mit biopositivem und bionegativem Einfluß auf das Genitale. Chlorose kann ausheilen, und ein hypoplastisches Genitale kann unter dem Einfluß des Spermas aufblühen. Als bionegative Einwirkung bezeichnet er die Abmagerung und den Verfall nach zu häufigem Verkehr analog den Fällen, wo im Versuch durch zu starke Spermainjektion eine Kachexie erzeugt wurde.

Daß das Sperma vom Genitale aus resorbiert werden kann, ist schon von vielen Forschern nachgewiesen worden. So wurden von *Waldstein* und *Ekler* hauptsächlich die Nager auf biologischem Wege untersucht. Es wurde geprüft, ob post cohabitationem Fermente gebildet werden, die das Spermaeiweiß abbauen, um daraus den Schluß zu ziehen, daß Sperma resorbiert wurde. Die Untersuchung wurde nach den Angaben

von *Abderhalden* durchgeführt. Beim normalen Kaninchen zirkulieren im Blut keine Sperma abbauenden Substanzen. Die Untersuchung besprungener Tiere wurde 24 Stunden nach dem Coitus ausgeführt. Alle Tiere hatten eine positive Reaktion. Tiere, die vorher negativ reagierten, zeigten jetzt ein positives Resultat. Die Reaktion war streng spezifisch nur auf Hoden und nicht auf andere Substanzen. Während der Gravidität ist die Probe auch positiv bis ins Puerperium hinein. 14 Tage nach dem Coitus erlischt die Abderhaldensche Reaktion bereits, wenn keine Befruchtung eingetreten ist. Sie ziehen also die Schlußfolgerung, daß eine „materielle Beeinflussung" des Weibchens erfolgt ist, daß Substanzen resorbiert worden sind, die dann diese Fermente erzeugen konnten. Für die Spermaresorption kommt nach Untersuchungen von *Vogt* in erster Linie die Uterusmucosa in Betracht. Eine vaginale Resorption wird abgelehnt. Nach *Leopold* ist diese Mucosa sehr reich an Lymphgefäßen. *Thomson* meint nun, daß die periglandulären Spatien mit der Absorption in Beziehung stehen. Die Uterusschleimhaut resorbiert sehr schnell, vor allem während der Schwangerschaft. *I. Rapp* und *Kohlbrügge* meinen, daß jeder Coitus wie eine Seruminjektion wirkt. Die Spermatozoen durchdringen die Schleimhaut und wandern in das unterliegende Bindegewebe ein. Die Spermaresorption kann als bewiesen angesehen werden. *Lewitzki* konnte Immunstoffe gegen das Sperma nachweisen, die bei Virgines nicht vorhanden waren. *Bodnar* und *Kamniker* untersuchten über 100 Frauen auf das Verhalten ihres Serums gegenüber Spermazufuhr in vitro. Die Spermatozoen blieben im Serum 8—10 Stunden lebendig. Nur bei Jungfrauen waren die Resultate positiv, da hier die Lebensdauer der Spermatozoen im Serum länger war. *Sakaki* untersuchte das Serum von Myomkranken wegen ihrer Sterilität. Er beobachtet Serum + Sperma im hängenden Tropfen. Es tritt bald Agglutination auf, wobei die Köpfe nach außen gewandt sind, während die Schwänze miteinander verklebt sind. Trotz der Verklebung bleiben die Zellen eine Zeitlang beweglich und versuchen die Verklumpung zu sprengen. Die Stärke der Agglutination in den einzelnen Seren schwankte sehr stark, war aber bei den Myompatienten immer am stärksten. *Van der Dyck* hat bei der Prüfung des Serums steriler Frauen gefunden, daß ihr Serum männliche Spermatozoen agglutinierte. Da jeder Gatte in einer neuen Verbindung zeugen konnte, so nennt er diese Ehe „mauvais attelage".

Die Arbeiten über die Reaktion des Organismus auf parenteral einverleibtes Sperma sind also, wie die obigen Ausführungen zeigen, sehr zahlreich. Alle mir bekannten Autoren behaupten, durch Injektion von Samen eine einwandfreie Sterilität beim Tier erzeugt zu haben, nur über die Art, wie diese Behandlung eine Unfruchtbarkeit bewirkt, herrscht Uneinigkeit. Daß injiziertes Eiweiß, also auch die Spermatozoen,

im Organismus eine Antikörperbildung hervorruft, ist wohl als bewiesen anzusehen. Jedoch die verschiedenen Arten der Antikörper, ihre Quantität und ihre Wirkung auf die Vitalität der Spermatozoen sind von den einzelnen Autoren noch nicht einheitlich dargestellt. Die Hauptstreitfrage ist die über die Spezifität des Spermas, ob es artspezifisch ist und das Antiserum nur auf die zur Injektion verwandten Spermatozoen wirkt, oder ob die Antikörper auf alle Spermaarten wirken, also organspezifisch sind. Einzelne Forscher behaupten auch, daß Spermaantigen dieselbe Wirkung besitzt wie Blutantigen.

Es ergeben sich für mich aus der Fülle der Fragestellungen folgende Probleme, die ich zu erklären versucht habe: 1. Ist es möglich, ein Tier durch Injektion artfremder Spermatozoen zu immunisieren, und wie wirkt diese Immunisation auf den Organismus? 2. Untersuchung des Serums auf Agglutinine, Toxine und komplementablenkende Stoffe.

Bei meinen Versuchen verwandte ich Bullensperma, das Kaninchen subcutan injiziert wurde. Zu jeder Spritzung wurde am Morgen im Schlachthaus ein Bullenhoden geholt, der dem Tier sofort nach dem Tode mit allen Hüllen entnommen wurde. $^3/_4$ Stunde post mortem konnte er in der Klinik schon präpariert werden. Dabei wird die Hülle des Hodens aufgeschnitten und der eigentliche Testis auf ein daneben liegendes steriles Tuch herausgestülpt. Dann wurde mit sterilen Instrumenten der Nebenhoden abpräpariert, so daß an ihm keine Blutgefäße hängenblieben. Evtl. restierende Gefäße werden eröffnet und in Ringerscher Lösung ausgespült, damit nur eine einzige Eiweißart, nämlich die Spermatozoen, vorhanden sind und das Blut nicht auch gleichzeitig Antikörperreaktionen auslöst, wie es wahrscheinlich bei *Moxter, Strube* u. a. der Fall war. Die Epididymis kommt darauf in eine sterile Petrischale mit Ringer und wird darin in erbsengroße Stücke zerschnitten. Man sieht dann sofort, wie sich die Kochsalzlösung durch das ausfließende Sperma milchig trübt. Diese Lösung muß nun noch durch eine vierfache Lage steriler Gaze hindurchfiltriert werden, worauf man eine reine Suspension von Spermatozoen in Ringerscher Lösung hat. Um nun noch das minimale Blut der Capillaren und andere gelöste eiweißhaltige Substanzen zu entfernen, wurde die Spermaaufschwemmung in der Zentrifuge mehrmals gewaschen. Da die corpusculären Blutbestandteile spezifisch schwerer sind als die Spermatozoen, so sitzen sie immer an der untersten Stelle des Zentrifugenröhrchens, nicht größer als ein stecknadelkopfgroßes Konglomerat. Von diesem Zentrifugat werden nur die oberen $^2/_3$ genommen und nochmals mehrere Male gewaschen. Im Mikroskop sind nunmehr keinerlei Blutbestandteile vorhanden. Zur genauen quantitativen Bestimmung wurde jetzt festgestellt, wieviel Spermatozoen in 1 ccm vorhanden waren. Sie werden nach vorheriger Abtötung und Verdünnung der Probe in der Zeiss-Thoma-Zähl-

kammer ausgezählt. Dies gelingt meist sehr gut und genau. Vor jeder Injektion wird die Lösung in den Brutschrank gestellt. Im Mikroskop kann man sehen, daß jetzt noch alle Spermatozoen beweglich sind und sich durch Spiralbewegungen des Schwanzes und Rotation des sehr flachen Kopfes vorwärts bewegen. Durch Kulturen auf Agarplatten konnte die völlige Sterilität der Spermatozoensuspension nachgewiesen werden, was für eine evtl. klinische Applikation sehr wesentlich ist. Meist wird die Lösung so eingestellt, daß 20 Millionen Spermatozoen in 1 ccm waren.

Es wurden 14 Kaninchen mit verschiedenen Dosen und wechselndem Intervall behandelt. Meist bekamen die Tiere 4 Injektionen mit 2- bis

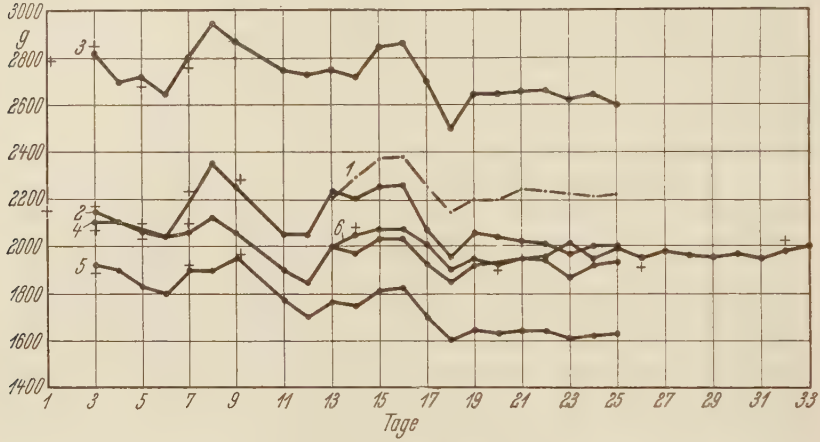

Abb. 1. Gewichtskurve.
——— = immunisiertes Tier, · · – · · = Kontrolltier, + = Tag der Injektion.

6tägigem Intervall. Die erste Spritze enthielt 50 Millionen Spermatozoen, die nächsten dann steigend, 100, 200 und 250 Millionen Samenfäden. Bei dieser Anordnung war es gleichgültig, in welcher Verfassung die Spermatozoen appliziert wurden. Teils wurde ungewaschener, teils gewaschener Samen genommen. Sogar in 0,25proz. Formalin abgetötetes Sperma und Spermatozoenextrakt hatten den gleichen Effekt. Der Extrakt wurde folgendermaßen hergestellt. Die Spermien kamen wie üblich zuerst in die Zählkammer und wurden dann sehr stark zentrifugiert. Der dicke Brei kam dann in einen Achatmörser, in dem die Zellen völlig zerrieben wurden, wie ein gefärbter Ausstrich zeigte. Da die Fläche des Achatmörsers glatt ist, so war es möglich, einigermaßen genau quantitativ zu arbeiten, da mit Ringerscher Lösung alles ausgewaschen werden konnte. Die Tiere wurden abwechselnd an den einzelnen Oberschenkeln subcutan injiziert. Nie zeigten sich irgendwelche Lokalerscheinungen infolge der unbedingten Sterilität der Gebrauchslösungen. Auch das Gewicht

wurde nicht durch die Injektionen beeinflußt, wie aus der Abb. 1 zu ersehen ist. Gewichtsabnahmen fanden sich nur am Sonnabend-Sonntag, was Unregelmäßigkeiten der Fütterung zuzuschreiben ist. Der leichte Abfall gegen Schluß der Kurve erklärt sich aus den täglichen Blutproben von 2—3 ccm, die dem Tier zur Antikörperbestimmung entnommen wurden.

Wahrscheinlich liegt der Gewichtsverlust, über den *Venema*, *Dittler* u. a. berichten, daran, daß nicht gewaschenes Material verwandt wurde und so neben dem eigentlich wirksamen Spermaeiweiß auch noch andere Substanzen in der komplexen Flüssigkeit suspendiert waren, die bei wiederholten Injektionen Kachexie erzeugen konnten. Der rapide Gewichtsverlust, den *Castoro* erzielte, ist wahrscheinlich einer Überdosierung zuzuschreiben. Er machte 18 Injektionen, jeden zweiten Tag eine. Wenn derartig große Eiweißmengen zugeführt werden, sind natürlich anaphylaktische Erscheinungen nicht auszuschließen. 3 Tage nach der letzten Injektion wurde zu den Tieren der Bock zugelassen. Die Tiere jagten sich, aber die Weibchen ließen keine Deckung zu. Der Bock wurde darauf 3 Tage bei dem weiblichen Tier belassen. Verwendet wurden nur erprobte fertile Böcke. Durch Probelaparotomie wurde ein Ovar und ein Uterushorn entfernt. Es waren keine pathologischen Veränderungen zu sehen und frische Corpora lutea stets vorhanden. Die von mehreren anderen Autoren, wie *Savini* und *Uchigaki*, gefundenen histologischen Veränderungen beruhen wahrscheinlich auf einer hormonalen Komponente neben der eigentlichen Immunisation, da von ihnen zur Sterilisation der ganze Hoden verwandt wurde analog den Versuchen von *Reiprich* an der Fraenkelschen Klinik. Erst nachdem die serologischen Reaktionen schwächer wurden, also nach etwa 2 Monaten, wurde der Bock von dem Weibchen angenommen, ohne es aber zu befruchten. Bis heute, also nach 9 Monaten, sind die Tiere immer noch steril trotz einwandfreier Kopulation.

Zum Nachweis der Antikörperbildung wurde das Serum der Tiere untersucht. Es wurde in der üblichen Weise gewonnen durch Blutentnahme aus einer Ohrvene. Nach der Gerinnung wurde das Blut zentrifugiert und das überstehende Serum abgenommen. Die Antikörper wurden nachgewiesen durch Agglutination in vitro, durch die direkte Beobachtung der Spermatoxinwirkung auf die beweglichen Spermatozoen unter dem Heizmikroskop und durch die Komplementablenkung nach *Bordet* und *Gengou*. Neben dem Serum der sterilisierten Tiere wurde zur Kontrolle immer Normalserum unter denselben Bedingungen untersucht.

Die Agglutination wurde so angestellt, daß in steigende Verdünnungen des Serums eine bestimmte Menge Spermatozoen kamen. Das erste Röhrchen enthielt 0,6 ccm Serum, von dem 0,3 ccm in die folgenden

Röhrchen überpipettiert wurde, die 0,3 ccm physiologische Kochsalzlösung enthielten. In jedes Röhrchen kam dann 0,3 ccm der gewaschenen Spermalösung, die 20 Millionen Spermatozoen im Kubikzentimeter enthielt. In Analogie zu den Bakterienagglutinationen wurden nun die Röhrchen für 2 Stunden in den Brutschrank von 37° gebracht. Nach dieser Zeit konnte aber nie irgendein Unterschied der Agglutination beobachtet werden, da alle Röhrchen, auch das serumfreie Kontrollröhrchen, verklumpt schienen. Erst nachdem ich mich entschloß, die Röhrchen 24 Stunden im Brutschrank zu belassen, konnten positive Ergebnisse verzeichnet werden. Dies lag daran, daß die in den höheren Serumverdünnungen noch nicht getöteten Spermatozoen sich trotzdem aktiv mittels eigener Beweglichkeit zusammenballten. Diese Verklumpung wird erst gelöst, wenn alle Spermatozoen abgetötet sind. Dann ist nur noch dort eine Agglutination vorhanden, wo die Spermatozoen *passiv* durch Agglutinine zusammengehalten werden. Der Tod der Spermatozoen dürfte analog den Untersuchungen von *Hammond* und *Walton* bei 37° nach etwa 12—14 Stunden eingetreten sein, während unterhalb dieser Temperatur die Spermien wesentlich länger bis zu 192 Stunden lebend erhalten blieben. Auch ich konnte beobachten, daß Spermatozoen desselben Präparates bei Zimmertemperatur wesentlich länger beweglich blieben als im Brutschrank. Wenn nun die Agglutinationsprobe schon nach 2 Stunden entfernt wurde, so hatten alle Spermien noch ihre volle Beweglichkeit und schienen agglutiniert. Die Verklumpung nach vorheriger Abtötung der Spermatozoen in Formalin, das nachher wieder ausgewaschen wurde, gelang nicht, da hier ebenfalls wieder die Probe agglutiniert war. Wenn man sich nun nach 24 Stunden, wenn die aktive Vereinigung der Spermien durch ihren Tod gelöst ist, die Reaktion im Kuhn-Woitheschen Agglutinoskop ansieht, dann ist ein deutlicher Unterschied festzustellen. Die Kontrolle, also Spermatozoen in physiologischer NaCl-Lösung, sieht zwar auch „agglutiniert" aus, zeigt aber doch große Unterschiede gegenüber den hohen Immunserumkonzentrationen. Diese Scheinagglutination ist so zu erklären, daß die Spermatozoen im Gegensatz zu Bakterien wesentlich größer sind und durch leichte Verfilzung ihrer Schwänze als Agglutination imponieren. Jedoch ist der Unterschied mit den positiven Proben sehr evident. Normales Serum zeigt nun ein sehr eigenartiges Verhalten, indem nämlich auch hier grobe Flockung auftritt, aber nur bei der Verdünnung 1 : 32 oder meist 1 : 64. Die stärkeren Serumkonzentrationen und auch die weiteren Verdünnungen zeigen keine Flockung und dasselbe Aussehen wie die Kontrolle. Auch bei den Agglutinationen der Bakteriologie gibt es manchmal eine ähnliche Kurve, wo die stärkste Verklumpung erst bei einer bestimmten Verdünnung auftritt. Bei den behandelten Tieren ändert sich aber schon 3—5 Tage nach der letzten Injektion das Bild. Hier ist die Agglutination

abfallend mit den Verdünnungen, am stärksten in den konzentrierten Proben, und ist noch sehr stark bei einer Verdünnung von 1 : 256 bis 1 : 512, und reicht, immer schwächer werdend, bis zu 1 : 8192. Diese starke Reaktion hält sich aber nicht länger als 1—2 Monate und erlischt allmählich unter erneutem Hervortreten der Agglutination in der Verdünnung 1 : 64, obschon vorläufig noch im Gegensatz zum Kontrollserum auch die anderen Röhrchen für die Zeit der Sterilität schwach positiv bleiben. Beistehende Abb. 2 zeigt die Agglutinationen in Kurvenform. Zur besseren Übersicht sind die Werte der Abszissen logarithmisch aufgetragen. Genaue Ordinatenwerte sind natürlich nicht möglich, da die Höhe der Konzentration objektiv nicht meßbar ist. Nur ein Ver-

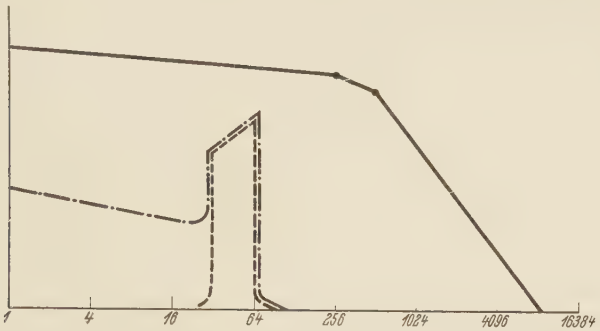

Abb. 2. Agglutinationskurve. Die Werte der Abszissen sind logarithmisch.
- - - - - = normales Serum, — · — · — = schwaches Immunserum, ——— = hochwertiges Immunserum.

gleich der einzelnen Proben kann die Agglutinationsstärke als schwach, mittel und stark unterscheiden. Im ganzen wurden ungefähr 40 Agglutinationen angestellt, deren mittlere Werte in der Kurve aufgezeichnet sind.

Dieses eigenartige Verhalten der Agglutinine ist bis jetzt von keinem Autor berichtet worden. Die stark wechselnden Ergebnisse der anderen Forscher beruhen wahrscheinlich auf der Vernachlässigung der Spermabeweglichkeit. *Moxter* umging die aktive, durch die eigene Beweglichkeit der Spermatozoen entstandene Agglutination durch Abtötung des Spermas und hatte darauf positive Resultate, machte jedoch keinerlei quantitative Experimente. Die anderen Autoren, wie *Metschnikoff*, *Adler*, *Savini*, *Dittler*, *Mc Cartney* und *Fogelson*, hatten sehr wechselvolle positive Ergebnisse. *Rosanov* berichtet über völlig negative Agglutinationsproben.

Neben diesen makroskopischen Agglutinationen versuchte ich nun noch direkt die Antikörperwirkung des Spermatoxins auf lebende Spermatozoen unter dem Heizmikroskop zu beobachten. Die steigenden Immunserumverdünnungen wurden in derselben Weise wie vorher beibehalten.

Darauf wurde die Spermasuspension hinzugefügt und die Zeit gleichzeitig genau bestimmt. Die Proben kamen dann sofort nach der Mischung der Spermien mit dem Serum auf dreifach hohlgeschliffenen Objektträgern unter das Heizmikroskop, um sich nun genau das Verhalten des Samens anzusehen. Die Präparate wurden während der ganzen Zeit unter dem Mikroskop belassen.

Auch hier wurde zuerst das Verhalten des *normalen* Serums geprüft. 20 Minuten nach dem Hinzufügen des Spermas konnte der hängende Tropfen schon im Mikroskop beobachtet werden, und es zeigte sich, daß in den Serumverdünnungen bis zu 1 : 8 alles abgetötet und kein Spermatozoon mehr beweglich war. Die Fäden schwammen regellos in dem Tropfen ohne irgendwelche Agglutinationserscheinungen. Auch nach längerer Zeit bis zu 48 Stunden zeigten sich keine Verklumpung und ebenfalls keine Auflösungserscheinungen. Auch auf mit Hämatoxylin-Eosin gefärbten Ausstrichen waren die morphologischen Verhältnisse restlos erhalten. Die von anderen Autoren wie *Metschnikoff* gesehenen Granula im Verlaufe des Schwanzes konnte auch ich vereinzelt beobachten, jedoch nur im ungefärbten hängenden Tropfen, während der gefärbte Ausstrich nichts ergab. Auf Toxineinflüsse sind die Granula jedoch nicht zu beziehen, da sie auch in den Kontrollen ohne Serum zu sehen waren. Der Übergang zu den weiter verdünnten Seren machte sich an den Samenfäden dadurch bemerkbar, daß immer mehr lebende Spermatozoen zwischen den toten Fäden auftraten. Bei den in ihrer Lebensfähigkeit geschwächten Spermien erlosch zuerst die Vorwärtsbeweglichkeit, während der sehr flache Kopf noch einige Zeit langsam weiter rotierte. Ein Zusatz von 10% Zucker + $1^0/_{00}$ Ätzkali nach dem Vorschlage von *Kölliker* zeigte nie irgendwelche belebende Wirkung auf die serumgeschwächten Spermien, während die Spermatozoen in den Kontrollen mit NaCl deutlich darauf reagierten. In der Verdünnung von 1 : 32 zeigte sich auch hier das eigenartige Verhalten, daß zwar alle Spermien beweglich, aber stark agglutiniert waren. Sie lagen mit den Köpfen festgebacken zusammen, während der Schwanz sich noch sehr stark bewegte. In stärkeren Verdünnungen war das Bild völlig gleich mit dem der Kontrolle, ohne jede feste Verklumpung. Bei den Versuchen ist es natürlich wesentlich, daß eine konstante Spermamenge benutzt wird, um durch Vergleich Schlüsse ziehen zu können. Denn wenn ich in das reine Serum eine sehr große Zahl von Spermatozoen brachte, so war dann neben den abgetöteten immer noch ein Teil beweglich, da das schädigende Agens, das Spermatoxin, schon von den abgetöteten Spermien verbraucht, also neutralisiert war.

Bei den *immunisierten* Tieren zeigte das Serum einen Anstieg der Giftigkeit gegenüber der Motilität der Spermien. Bei einer Verdünnung von 1 : 32 waren hier noch alle Spermatozoen abgetötet, während bei

entsprechend stärkerer Verdünnung die Beweglichkeit mit dem Verdünnungsgrad schnell anstieg. Dagegen änderte sich auch hier unter dem Mikroskop das Verhalten der Agglutinine, die mit dem Grade der Immunisation anstiegen. Trotzdem die Spermien wieder deutlich agglutiniert wurden in einer Verdünnung von 1 : 8192, war also die Vitalität nicht proportional geschädigt. Cytolytische Erscheinungen wurden selbst durch die hochwertigsten Immunsera nie ausgelöst, analog den Berichten von *Metschnikoff*, *Moxter* und *Fogelson*. Über eine Auflösung der Spermatozoen berichten nur *Taylor* und *Rosanow*. Ich selbst sah bei manchen Versuchsserien auch sehr zahlreiche lichtbrechende Pünktchen im hängenden Tropfen unterm Heizmikroskop und dachte anfangs auch an cytolytische Erscheinungen. Bei fortgesetzter Beobachtung zeigte es sich jedoch, daß diese Granula auf bakteriellen Verunreinigungen des Präparates beruhen und nicht auf Veränderungen der Spermatozoen.

Diese Versuche zeigen also, daß die Normaltoxizität des Serums gegenüber Spermatozoen während der Immunisation ansteigt. Während gewöhnliches Serum nur bis zu einer Verdünnung von 1 : 8 den Samen abtötet, steigt dieser Titer während der Behandlung auf 1 : 32. Die Technik dieser Toxizitätsuntersuchungen ist sehr subtil, da nur bei genauer Auszählung der Spermatozoen brauchbare Resultate zu erzielen sind. Auch die verschieden starke Vitalität der einzelnen Spermaproben muß berücksichtigt werden. Mehrere Stunden alte und geschwächte Samenfäden dürfen nicht verwandt werden. Meine Bestimmungen stützen sich auf 20 Versuchsserien unter dem Heizmikroskop. Der größte Teil der oben erwähnten Autoren konnte ebenfalls Toxine nachweisen, teils in vivo durch Injektion von Sperma in die Bauchhöhle, teils auch in vitro durch Serumuntersuchungen. Genaue quantitative Angaben wurden niemals gemacht. *Moxter* konnte nur in vivo die Giftstoffe nachweisen, während im Reagensglas ihm und auch *Jarcho* und *Rosenfeld* der Toxinnachweis nicht gelang.

Neben diesen Agglutinations- und Toxizitätsuntersuchungen wurde nun noch die Komplementablenkung geprüft, die ja nicht nur eine bakterielle Immunität anzeigt, sondern auch Antikörper, die gegen Eiweiß gebildet werden. Die Technik der Reaktion war die übliche mit steigenden Serumverdünnungen unter Hinzufügung von Antigen und Komplement, dem nach einer Stunde Brutschrank das hämolytische System als Indicator zugesetzt wurde. In 4 Vorversuchen wurde der Amboceptor, das Komplement sowie das Antigen qualitativ und quantitativ austitriert. Das Immunserum der Kaninchen war nur mit Bullensperma erhalten worden, während als Antigen das Sperma vom Bullen, Hammel und Kaninchen angewandt wurde. Das Antigen stellte ich mir folgendermaßen her: Die Spermatozoen wurden wiederum sehr stark gewaschen. Nachdem sie zentrifugiert waren, wurde die überstehende physiologische

NaCl-Lösung abpipettiert und etwa die vierfache Menge des Zentrifugates an 96proz. Alkohol hinzugefügt. Nun wurde der Brei im Achatmörser noch kräftig zerrieben und für 24 Stunden in den Brutschrank gestellt. Darauf wurden die Spermien nochmals zentrifugiert und der überstehende Alkoholextrakt abpipettiert, der nun leicht opak aussah. Neben diesem alkoholischen Auszug stellte ich einen zweiten nur mit NaCl. her. Der Erfolg war derselbe, nur ist es hier sehr schwierig, die Lösung steril zu erhalten. Die Haltbarkeit des Antigens war sehr kurz, trotz Verdunkelung und Aufbewahrung im Eisschrank. Die immunbiologische Wirksamkeit fiel binnen einer Woche von 1 : 16 auf 1 : 4. Im ganzen machte ich 82 Komplementablenkungen abwechselnd mit den 3 verschiedenen Antigenen gegenüber dem Serum von den 14 gegen Sperma immunisierten Kaninchen. Das Ergebnis dieser eingehenden Untersuchungsreihe war kurz folgendes: 5—10 Tage nach der letzten Injektion wurde der Ausschlag positiv gleichmäßig bei *allen* Antigensorten. Bis zu der Verdünnung von 1 : 128 war keine Hämolyse zu erzielen, während darüber komplette Hämolyse stattfand. Bis jetzt, also nach 9 Monaten, sind noch alle Seren positiv, aber etwas schwächer als zu Anfang der Immunisation. Das Schwächerwerden zeigt sich nicht dadurch an, daß der Titer von 1: 128 abfällt, sondern allgemein durch leichte Hämolyse auch der positiven Röhrchen. Auch hier zeigt sich nach dem Schwächerwerden der Reaktion die Prominenz der Verdünnung 1 : 32, während darüber und darunter die Reaktionen geringer sind, was darauf hinweist, daß es auch bei der Komplementablenkung eine optimale Konzentration des Antiserums gibt. Genau den gleichen Titer von 1 : 128 erhielt *Fogelson* durch Präcipitation. *Rosenfeld* konnte sogar bis zu einer Verdünnung von 1 : 600 Komplementablenkung zeigen. Die anderen Autoren geben keine genauen Zahlenwerte an. *Savini* und *Savini-Castano* konnten nie eine Komplementfixation nachweisen.

Aus meinen Serumreaktionen der sterilisierten Tiere kann man den *Schluß ziehen, daß durch die parenterale Spermazufuhr Antikörper gebildet werden, die nicht spezifisch sind für die betreffenden zur Sterilisierung verwandten Spermatozoen, sondern überhaupt für alle Spermaarten.* Dadurch erklärt es sich auch, daß man beim Tier durch heterologe Spermien Sterilität erreicht. *Die Spermatozoen bilden also in serologischer Hinsicht eine Ausnahme, indem sie eine Organspezifität zeigen.* Daß diese Organspezifität vorhanden ist, zeigt auch der Versuch, daß eine Komplementablenkung durch andere Organe des zur Immunisation verwandten Tieres nicht nachzuweisen ist. Ein Herzmuskelextrakt des Rindes ergab mit Bullensperma-Immunserum keinerlei positive Ergebnisse. Dies beweist also, daß es sich bei den Versuchen nicht um eine völlig unspezifische Immunisation handelt. Wie nun die Toxine auf die Spermatozoen im Genitale wirken, kann ich nicht aus-

sagen. Ich versuchte es, Fisteln des Uterus anzulegen, um direkt die Wirkung beobachten zu können. Jedoch ist es unmöglich, derartige Fisteln über längere Zeit aseptisch zu halten. Nur bei einer Fistel, die gelungen ist, konnte ich beim normalen, nicht vorbehandelten Tier noch nach 8 Stunden im Uterus lebende Kaninchenspermien nachweisen, jedoch vereiterte später die Fistel ebenfalls. Es ist sehr wahrscheinlich, daß die Toxine auch im Genitalsekret vorhanden sind, da ja auch bei Infektionskrankheiten Antikörper hier nachweisbar waren. Die Unterbrechung einer bestehenden Gravidität kann deswegen mit dieser Methode nicht gelingen, da diese Immunisierung eine aktive gegen Spermatozoen ist, also auf die fertige Schwangerschaft keinen Einfluß mehr hat. Ob es nun beim Menschen möglich ist, durch die Komplementablenkung nachzuweisen, daß Antikörper eine evtl. bestehende Sterilität verursachen, also eine „Spermaimmunität" vorhanden ist, halte ich nach meinen Versuchen für möglich. Normales Menschenserum fruchtbarer Frauen gibt stets eine negative Komplementbindung. Genaue Untersuchungen des Serums steriler Frauen will ich jedoch erst später anstellen und gleichzeitig sehen, ob vaginal zugeführtes Sperma Antikörperbildung auslöst, also in matrimonio durch den Verkehr eine immunisatorische Sterilität entstehen kann. Für forensische Zwecke zum Spermanachweis ist vielleicht das hochgestellte Immunserum eines behandelten Tieres sehr gut zu gebrauchen, hauptsächlich da ich in meinen Versuchen das Sperma organspezifisch wirken sah im Gegensatz zu *Strube* und *A. Schütze*, die fanden, daß Spermaimmunserum nicht nur mit Sperma, sondern auch mit Blutserum der betreffenden Tiere eine positive Reaktion ergibt.

Abschließen möchte ich meine Ausführungen mit dem Ausdruck des Dankes an Herrn Prof. Dr. *L. Fraenkel*, dessen dauernder Anteilnahme an meinen Untersuchungen ich viele Anregungen verdanke, sowie an Herrn Dr. *G. J. Pfalz*, der mich stets bereitwillig mit seiner Erfahrung unterstützte. Dank schulde ich auch der technischen Assistentin der bakteriologischen Abteilung, Fräulein *L. Krause*, die mich bei meiner Arbeit wertvoll unterstützte.

Literaturverzeichnis.

Adler, G., Z. Immun.forschg **3**, 447 (1909). — *Bodnar, L.*, u. *H. Kamniker*, Z. Geburtsh. **89**, 85 (1925) — Dtsch. med. Wschr. **51**, 2119 (1925). — *Castoro, R.*, Arch. Ostetr. **13**, 558 (1926). — *Dittler, R.*, Münch. med. Wschr. **67**, 1495 (1920). — *Dunbar*, Z. Immun.forschg **4**, 740 (1910). — *Farnum, C. G.*, J. amer. med. Assoc. **37**, 1021 (1901). — *Fitzgerald, J. G.*, Ann. Inst. Pasteur **12**, 973 (1910). — *Fogelson, S. J.*, Surg. etc. **42**, 374 (1926). — *Fraenkel, L.*, Ref. f. d. Dtsch. Gynäk.-Kongr. Frankfurt a. M. 1931. Arch. Gynäk. **144**, 1. — *Guyer, M. F.*, Amer. Naturalist **55**, 637 (1922) — J. of exper. Zool. **32**, 207 (1922). — *Haberlandt*, Klin. Wschr. **1923**, 1938 — Münch. med. Wschr. **49**, 1577 (1921). — *Hammond, J.*, J. of exper.

Biol. **7**, 175 (1930). — *Hektoen, L.*, J. amer. med. Assoc. **78**, 704 (1922). — *Hodann*, Vorträge und Verhandlungen des Ärztekursus vom 28. bis 30. XII. 1928, Berlin. — *Höhne* u. *Behne*, Zbl. Gynäk. **1914**, 5. — *Jarcho*, Amer. J. Obstetr. **16**, 813 (1928). — *Koelliker*, Z. wiss. Zool. **7**, 252. — *Kohlbrügge*, Arch. Entw.mechan. **35**, 165 (1912). — *Kolle, W.*, u. *H. Hetsch*, Die experimentelle Bakteriologie. Berlin: Urban & Schwarzenberg 1929. — *Laffont, A.*, Gynéc. et Obstétr. **20**, 304 (1929). — *Landsteiner*, Zbl. Bakter. **25**, 546 (1899) — Münch. med. Wschr. **1902**. — *Littauer, A.*, Z. Geburtsh. **93**, 369. — *Mayer, A.*, Klin. Wschr. **1922**, 1142. — *McCartney, J. L.*, Amer. J. Physiol. **63**, 207 (1923). — *Metalnikoff, S.*, Ann. Inst. Pasteur **14**, 9 u. 577 (1900) — Z. Immun.forschg **7**, 185 (1910). — *Metalnikoff, S.*, u. *Strelnikov*, Z. Immun.forschg **1913**, 17. — *Metschnikoff*, Ann. Inst. Pasteur **14**, 1 (1900). — *Minet* u. *Leclercq*, C. r. Soc. Biol. Paris **13**, 506 (1911). — *Moxter*, Dtsch. med. Wschr. **4**, 61 (1900). — *Naujoks*, Das Problem der temporären Sterilität der Frau. Enke 1925. — *Pankow*, Zbl. Gynäk. **30** (1915). — *Pfeiffer, G.*, Wien. klin. Wschr. **1905**, 24. — *Prausnitz*, Grundzüge der Hygiene. 12. Aufl. 1923. — *Reiprich, W.*, Arch. Gynäk. **136**, 417 (1929). — *Rosanov, N. J.*, J. med. biol. Moskau **5**, 35 (1927). — *Rosenfeld, S. S.*, Amer. J. Obstetr. **12**, 385 (1926). — *Sakaki*, Dtsch. med. Wschr. **4**, 179 (1914). — *Savini*, C. r. Soc. Biol. Paris **1911**, 22. — *Savini-Castano*, C. r. Soc. Biol. Paris **1911**, 106. — *Schütze, A.*, Dtsch. med. Wschr. **1902**, 804. — *Stieve, G.*, Arch. Entw.mechan. **45**, 3 (1919). — *Strube*, Dtsch. med. Wschr. **24**, 425 (1902). — *Taylor*, J. of biol. Chem. **5**, 311 (1908). — *Tsukahara, I.*, Z. Immun.forschg **34**, 444 (1922). — *Tuschnoff, M. P.*, Wiss. Nachr. Kasan. Vet.-Inst. **27**, 1 (1910). — *Uchigaki, S. J.*, Jap. J. Obstetr. **10**, 1 (1927). — *Venema*, Dtsch. med. Wschr. **46**, 1419 (1916). — *Vogt, E.*, Klin. Wschr. **1922**, 1144. — *Waldstein, E.*, u. *R. Ekler*, Wien. klin. Wschr. **26**, 1689 (1913). — *Walton, A.*, J. of exper. Biol. **7**, 201 (1930).

Lebenslauf

Am 26. Januar 1908 wurde ich als Sohn des Studienrats Dr. Erich Ardelt in Posen geboren und bestand Ostern 1926 am staatlichen St. Matthiasgymnasium in Breslau die Reifeprüfung. Ich studierte in Breslau und Heidelberg 10 Semester Medizin. Am Schluß des 4. Semesters bestand ich in Breslau das Vorexamen. Die medizinische Staatsprüfung bestand ich Juli 1931. Ich bin preußischer Staatsangehöriger.